مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۴، شماره ۲، سال ۱۳۹۷

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های جنس کنار (Ziziphus) با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی

Evaluation of Genetic Diversity in Some Ziziphus Genotypes Using Morphological Characteristics and Molecular Markers

الهام نوروزی[۱]، جواد عرفانی مقدم[۲] و آرش فاضلی[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۲ و ۳- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۴   تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲۰

چکیده

نوروزی، ا.، عرفانی مقدم، ج.، و فاضلی، آ. ۱۳۹۷. ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های جنس کنار (Ziziphus) با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۴**: ۲۴۳-۲۲۲. 10.22092/spij.2018.118836

کنار و عناب (*Ziziphus* spp.) از میوه‌های گرمسیری و نیمه‌گرمسیری می‌باشند. در پژوهش حاضر ۷۲ نمونه از پنج گونه‌ی متعلق به جنس Ziziphus که از بخش‌های مختلف استان خوزستان و ایلام جمع‌آوری شده بودند بر اساس صفات برگ و میوه ارزیابی شدند. نتایج ارزیابی خصوصیات ریختی نشان داد تنوع بالایی در برخی از صفات مانند وزن میوه، نسبت گوشت به بذر، اندازه برگ، نسبت قند به اسید میوه وجود داشت. در میان نمونه‌ها بیشترین و کمترین وزن میوه به ترتیب متعلق به دو گونه *Z. mauritiana* و *Z. nummularia* بود. دامنه تغییرات وزن میوه در این پژوهش بین ۰/۹۶ تا ۲۱/۴۶ گرم بدست آمد. همچنین، در بخش دوم این پژوهش ۳۰ نمونه از میان ژنوتیپ‌های بررسی شده که دارای وزن میوه بیشتر بودند انتخاب و تنوع ژنتیکی میان آنها با ۱۵ آغازگر ISSR بررسی شد. در مجموع ۱۶۶ آلل از ۱۵ مکان ISSR شناسایی و اندازه آلل‌ها در محدوده ۱۷۰ تا ۱۵۰۰ جفت‌باز متغیر بود. تعداد آلل‌های مشاهده شده برای هر مکان در دامنه ۶ (LBMB-B) تا ۱۵ (HB12 و HB14) آلل با میانگین ۱۱/۰۶ آلل برای هر مکان بود. شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی برای مکان‌های HB14 و UBC-826 بالا (۰/۸۱) و برای مکان LBMB-B دارای کمترین مقدار (۰/۶۵) و میانگین آن ۰/۷۶ در بین همه مکان‌های ISSR بود.

واژه‌های کلیدی: کنار، عناب، منابع ژنتیکی، وزن میوه، آغازگر ISSR.

نگارنده مسئول: j.erfani@ilam.ac.ir   تلفن: ۰۸۴۵۹۲۴۱۵۰۱

مقدمه

جنس کنار (Ziziphus) متعلق به خانواده Rhamnaceae است که در این خانواده نزدیک به ۶۰ جنس و بیش از ۹۰۰ گونه گیاهی وجود دارد که در مناطق گرمسیری و معتدله سراسر جهان گسترش یافته‌اند (Azam-Ali *et al.*, 2001). گونه‌های گیاهی موجود در خانواده عناب و جنس Ziziphus که مهم‌ترین آن‌ها در مناطق جنوبی کشور به درختان کنار معروف می‌باشند در زمره همین گیاهان محسوب می‌شود (Asare, 2008).

ژنوتیپ‌های مختلف کنار و عناب به صورت درخت یا درختچه‌های اغلب خاردار می‌باشند (Mozaffarian, 2004). این گیاهان به خوبی با اقلیم گرم و خشک سازگار می‌باشند، بنابراین این ویژگی‌ها باعث شده است کنار گونه‌ای مناسب برای احیاء پوشش زمین‌های تخریب شده مطرح شود. از طرف دیگر برخی از مطالعات حاکی از آن است که کنار به شرایط شوری نیز سازگار است (Abdollahi *et al.*, 2013).

عدم توجه به منابع ژنتیکی موجب آسیب‌پذیری ژنتیکی و کاهش سطح تنوع و تهدید گونه‌های بومی می‌گردد.. در پژوهشی تنوع ژنتیکی کنار را در ۳ استان خوزستان، لرستان و هرمزگان بر اساس صفات ریختی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که وزن میوه از ۰/۵ تا ۱۵ گرم، طول برگ از ۲ تا ۶/۷ سانتی‌متر و مواد جامد محلول از ۲۰ تا ۲۵ درجه بریکس متفاوت است و ارزیابی صفات ریختی در میان ژنوتیپ‌های مختلف توانست بر مبنای تفاوت‌های موجود در برخی از ویژگی‌های کمی و کیفی آن‌ها را گروه‌بندی نماید (Bina *et al.*,2012). در گزارشی دیگر، نتایج تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم عناب در استان گلستان بر اساس صفات ریختی و خصوصیات فیزیکی- شیمیایی میوه نشان داد تنوع بالایی در این محصول وجود دارد (Ghazaeian and Zeraatgar, 2014). همچنین (Razi *et al.*, 2013) خصوصیات ریختی برگ و میوه ۱۳ رقم از گونه *Z. mauritiana* را در پاکستان ارزیابی و آنها را بر اساس خصوصیات ظاهری تفکیک کردند.

خاکدامن و همکاران (Khakdaman *et al.*, 2007) تنوع ژنتیکی ۲۹ اکوتیپ عناب جمع‌آوری شده از ۱۵ استان ایران نشان دادند که تفاوت معنی‌داری در طول و عرض برگ وجود دارد و تجزیه خوشه‌ای بر اساس ویژگی‌های ریختی اکوتیپ‌های مورد بررسی را در سه گروه با منشاء اصفهانی، مازندرانی و خراسانی تفکیک نمود. در پژوهشی دیگر برخی از صفات فیتوشیمیایی، ریختی و عناصر معدنی ۲۳ اکوتیپ عناب در ایستگاه تحقیقات گازرون استان قم ارزیابی شد و نتایج نشان داد تنوع ژنتیکی بالایی در نمونه‌های مورد بررسی وجود دارد (Saeidi *et al.*, 2016).

گریگوریوا و همکاران (Grygorieva *et al.*, 2014) خصوصیات ریختی ۲۸ ژنوتیپ عناب را مورد بررسی قرار دادند که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به هفت گروه تقسیم شدند. در پژوهشی دیگر، ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2015) تنوع ژنتیکی ۴۵ نمونه عناب جمع‌آوری شده از کشور چین را با استفاده از ۲۴ نشانگر SSR و خصوصیات ریختی بررسی کردند و بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای بر اساس ویژگی‌های ریختی نمونه‌ها در چهار گروه عمده قرار گرفتند. ارزیابی ژنتیکی گونه‌ای از عناب (*Z. celata*) با استفاده از ویژگی‌های ریختی، آنزیمی و با استفاده از ۱۳ نشانگر آنزیمی، نشان داد چندشکلی در حدود ۲۵ درصد بود (Godt *et al.*, 1997).

غوث و همکاران (Ghouth *et al.*, 2014) عناب‌های ایران را بر اساس صفات کمی و نشانگرهای ISSR و RAPD گروه‌بندی کردند. تنوع قابل ملاحظه‌ای در میان ۲۹ اکوتیپ مورد بررسی با کمک نشانگرهای یاد شده بدست آمد. از میان ۱۳ آغازگر استفاده شده، شش آغازگر انتخاب و ۸۴ مکان باندی به دست آمد. همچنین از میان ۱۵ آغازگر RAPD، بیش از ۸۰ درصد چندشکلی بین مکان‌های تکثیر شده با استفاده از شش آغازگر مشاهده شد. نتایج تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات کمی این اکوتیپ‌ها را در سه تا شش گروه اصلی دسته‌بندی کرد.

تنوع ژنتیکی گونه *Z. mauritiana* با استفاده از ۱۸ نشانگر ISSR بررسی شد که در مجموع ۱۶۷ باند تکثیر شد (Singh *et al.*, 2007). لی و همکاران (Li *et al.*, 2008) برای ارزیابی ساختار ژنتیکی عناب (رقم Huizao) از نشانگر ISSR استفاده کردند و نتایج نشان داد که ۱۰ آغازگر از ۷۰ آغازگر مورد بررسی در مجموع ۹۶ الگوی باندی تکثیر شد که ۷۶ باند دارای ۷۹/۱۷ درصد چندشکلی بودند. در پژوهشی دیگر تنوع ژنتیکی ۲۹ ژنوتیپ عناب بر اساس ۱۵ جفت آغازگر AFLP بررسی شد و نتایج تجزیه خوشه‌ای به خوبی نمونه‌های قم، اصفهان و خراسان را از همدیگر تفکیک نمود (Shahhoseini *et al.*, 2012).

جنس کنار (Ziziphus) در غرب و جنوب غرب ایران دارای گونه‌های متعددی است و در واقع یکی از پوشش‌های گیاهی مهم در این مناطق به شمار می‌آید و شناسایی ژنوتیپ‌های مطلوب و ارزیابی خویشاوندی بین آنها می‌تواند در به‌نژادی این میوه جنگلی برای دستیابی به نتاج یا ژنوتیپ‌هایی با وزن میوه بیشتر و کیفیت بالاتر موثر باشد. در این راستا پژوهش حاضر به منظور ارزیابی اولیه از منابع موجود این جنس در غرب کشور و بررسی وجود تنوع ژنتیکی با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و نشانگر مولکولی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو سال باغی ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ در بخش گروه علوم باغبانی دانشگاه ایلام صورت گرفت و مشخصات ژنوتیپ‌های مورد بررسی به همراه منطقه جمع‌آوری شده در جدول ۱ ارائه شده است.

در این پژوهش ۷۲ نمونه از ژنوتیپ‌های کنار و عناب که از مناطق نیمه‌گرمسیری مختلف خوزستان شامل شهرستان‌های ایذه، آبادان، اهواز، مسجدسلیمان، شوشتر، ملاثانی، باغملک، هلایجان، بارانگرد و هفتگل و چند نمونه از شهرستان مهران در استان ایلام جمع‌آوری شده بودند از لحاظ خصوصیات ریخت‌شناسی برگ، میوه و بذر مورد بررسی قرار گرفتند.

ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده متعلق به پنج گونه از جنس کنار (Ziziphus) بودند و شناسایی نمونه‌های مربوط به هر گونه براساس اطلاعات ارائه شده توسط مظفریان (Mozafarian, 2004) صورت گرفت. همه نمونه‌های مذکور، به غیر از نمونه‌های متعلق به گونه *Z. mauritiana* از مکان‌های جنگلی مناطق ذکر شده جمع‌آوری گردید و چهار نمونه متعلق به گونه *Z. mauritiana* از باغات میوه این مناطق که به شکل تک درخت کشت شده بودند جمع‌آوری شد (جدول ۱).

برگ و میوه نمونه‌های مورد بررسی در مرحله بلوغ کامل و رسیدن میوه‌ها به طور تصادفی از بخش‌های مختلف درختان کنار و عناب در پاییز سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری گردید. فاصله تقریبی نمونه‌های جمع‌آوری شده در یک منطقه حداقل برابر با ۴۰۰ تا ۵۰۰ متر بود و برای ارزیابی صفات مرتبط با برگ و میوه از هر ژنوتیپ ۵۰ برگ و میوه به طور تصادفی انتخاب و صفات مربوط برای آن‌ها ثبت شد (جدول ۲).

برای اندازه‌گیری صفات کمی مرتبط با برگ، میوه و بذر مانند طول و عرض نمونه‌ها از کولیس با دقت یک صدم میلی‌متر استفاده شد. وزن میوه و بذر با استفاده از ترازوی الکترونیکی با دقت یک صدم گرم به دست آمد. مواد جامد محلول به روش انکسارسنجی با استفاده از دستگاه رفرکتومتر دستی ثبت شد. اسید قابل تیتراسیون میوه بر اساس تیتراسیون با روش استاندارد با سود ۰/۱ نرمال تا pH = ۸/۲ و با استفاده از pH متر انجام شد.

اندازه تقریبی برگ با استفاده از حاصلضرب طول برگ در ماکزیمم عرض برگ به دست آمد. برای برآورد درصد رطوبت و ماده خشک میوه قطعه‌ای از گوشت میوه جدا و پس از توزین به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد خشک گردید. نمونه خشک شده به مدت ۱۵ دقیقه در داخل دسیکاتور قرار گرفت و پس از توزین مجدد وزن خشک آن ثبت شد و بر اساس روابط موجود درصد رطوبت و ماده خشک میوه به دست آمد (Fenton and Kennedy, 1998).

تجزیه و تحلیل داده‌های ریختی با استفاده از

جدول ۱- جمعیت‌های مورد بررسی Ziziphus و مناطق جمع‌آوری نمونه‌ها
Table 1. Studied Ziziphus populations and accessions collection areas

شماره نمونه Accession No.	محل جمع‌آوری Collection area		گونه Species	شماره نمونه Accession No.	محل جمع‌آوری Collection area		گونه Species
1	Eizeh	ایذه	*Z. spina-christi*	17	Abkonarak-Eizeh	آبکنارک- ایذه	*Z. nummularia*
2	Eizeh*	ایذه	*Z. spina-christi*	18	Lashkargah-Eizeh*	لشکرگاه- ایذه	*Z. spina-christi*
3	Rasfand-Eizeh	رسفند- ایذه	*Z. spina-christi*	19	Lashkargah-Eizeh	لشکرگاه- ایذه	*Z. nummularia*
4	Rasfand-Eizeh	رسفند- ایذه	*Z. nummularia*	20	Lashkargah-Eizeh	لشکرگاه- ایذه	*Z. nummularia*
5	Badamzar-Eizeh	بادامزار- ایذه	*Z. nummularia*	21	Lashkargah-Eizeh*	لشکرگاه- ایذه	*Z. spina-christi*
6	Takoter-Eizeh	تاکوتر- ایذه	*Z. spina-christi*	22	Jazestan-Eizeh	جازستان- ایذه	*Z. nummularia*
7	Kamalvand-Eizeh*	کمالوند- ایذه	*Z. oxyphylla*	23	Jazestan-Eizeh*	جازستان- ایذه	*Z. spina-christi*
8	Kamalvand-Eizeh	کمالوند- ایذه	*Z. nummularia*	24	Jazestan-Eizeh*	جازستان- ایذه	*Z. spina-christi*
9	Kamalvand-Eizeh*	کمالوند- ایذه	*Z. spina-christi*	25	Jazestan-Eizeh*	جازستان- ایذه	*Z. spina-christi*
10	Dashtmal-Eizeh	دشتمال- ایذه	*Z. oxyphylla*	26	Jazestan-Eizeh*	جازستان- ایذه	*Z. spina-christi*
11	Shoar-Eizeh	شعار- ایذه	*Z. spina-christi*	27	Shahr-e-Bazi-Eizeh	شهربازی- ایذه	*Z. nummularia*
12	Takht-e-Kashan-Eizeh	تخت کاشان- ایذه	*Z. spina-christi*	28	Halijan	هلیجان	*Z. spina-christi*
13	Dastkortan-Eizeh*	دست کوتان- ایذه	*Z. spina-christi*	29	Baghmalek	باغ ملک	*Z. oxyphylla*
14	Kolfrah-Eizeh	کلفراه- ایذه	*Z. spina-christi*	30	Baghmalek *	باغ ملک	*Z. mauritiana*
15	Bersiah-Eizeh	برسیاه- ایذه	*Z. spina-christi*	31	Baghmalek	باغ ملک	*Z. nummularia*
16	Bersiah-Eizeh*	برسیاه- ایذه	*Z. spina-christi*	32	Baghmalek	باغ ملک	*Z. nummularia*

*: Selected accessions for second experiment

*: نمونه‌های انتخاب شده برای آزمایش دوم

Table 1. continued | ادامه جدول ۱

شماره نمونه Accession No.	محل جمع‌آوری Collection area		گونه Species	شماره نمونه Accession No.	محل جمع‌آوری Collection area		گونه Species
33	Barangard*	باران گرد	*Z. oxyphylla*	53	Abadan	آبادان	*Z. spina-christi*
34	Haftgel	هفتگل	*Z. nummularia*	54	Abadan	آبادان	*Z. nummularia*
35	Haftgel	هفتگل	*Z. nummularia*	55	Abadan	آبادان	*Z. spina-christi*
36	Haftgel	هفتگل	*Z. nummularia*	56	Abadan*	آبادان	*Z. spina-christi*
37	Haftgol	هفتگل	*Z. nummularia*	57	Abadan	آبادان	*Z. spina-christi*
38	Masjed Soleiman	مسجد سلیمان	*Z. nummularia*	58	Abadan*	آبادان	*Z. spina-christi*
39	Masjed Soleiman	مسجد سلیمان	*Z. nummularia*	59	North Bavardeh-Abadan*	بوارده شمالی- آبادان	*Z. mauritiana*
40	Masjed Soleiman	مسجد سلیمان	*Z. nummularia*	60	South Bavardeh-Abadan	بوارده شمالی- آبادان	*Z. spina-christi*
41	Masjed Soleiman*	مسجد سلیمان	*Z. oxyphylla*	61	Ahvaz*	اهواز	*Z. mauritiana*
42	Masjed Soleiman	مسجد سلیمان	*Z. oxyphylla*	62	Ahvaz*	اهواز	*Z. mauritiana*
43	Shoshtar	شوشتر	*Z. spina-christi*	63	Ahvaz*	اهواز	*Z. spina-christi*
44	Shoshtar*	شوشتر	*Z. spina-christi*	64	Mehran	مهران	*Z. nummularia*
45	Shoshtar	شوشتر	*Z. nummularia*	65	Mehran*	مهران	*Z. spina-christi*
46	Shoshtar	شوشتر	*Z. spina-christi*	66	Mehran	مهران	*Z. oxyphylla*
47	Mollasani	ملاثانی	*Z. spina-christi*	67	Mehran*	مهران	*Z. oxyphylla*
48	Mollasani	ملاثانی	*Z. oxyphylla*	68	Mehran	مهران	*Z. oxyphylla*
49	Mollasani	ملاثانی	*Z. spina-christi*	69	Mehran*	مهران	*Z. oxyphylla*
50	Mollasani*	ملاثانی	*Z. spina-christi*	70	Ilam*	ایلام	*Z. jujuba*
51	Mollasani*	ملاثانی	*Z. spina-christi*	71	Ilam*	ایلام	*Z. jujuba*
52	Abadan*	آبادان	*Z. spina-christi*	72	Mishkhas-Ilam*	میش‌خاص- ایلام	*Z. jujuba*

*: Selected accessions for second experiment

*: نمونه‌های انتخاب شده برای آزمایش دوم

جدول ۲- صفات ریختی مطالعه شده در ژنوتیپ‌های Ziziphus

Table 2. Studied morphological charactoristics of Ziziphus genotypes

Characteristic	خصوصیت	Characteristic	خصوصیت
Leaf blade length (cm)	طول پهنک برگ (سانتی‌متر)	Total soluble solids (%)	درصد مواد جامد محلول کل
Maximum leaf blade width (cm)	بیشینه عرض پهنک برگ (سانتی‌متر)	Titratable acidity (mgl^{-1})	اسید قابل تیتراسیون (میلی‌گرم بر لیتر)
Leaf blade area (cm^2)	مساحت پهنک برگ (سانتی‌مترمربع)	TSS/TA ratio	نسبت مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراسیون
Petiole length (cm)	طول دمبرگ (سانتی‌متر)	Fruit Moisture (%)	درصد رطوبت میوه
Ratio of leaf length to petiole length	نسبت طول برگ به طول دمبرگ	Fruit dry matter (%)	درصد ماده خشک میوه
Leaf blade position of maximum width (code)	موقعیت بیشینه عرض پهنک برگ (کد)	Stone weight (g)	وزن هسته (گرم)
Fruit weight (g)	وزن میوه (گرم)	Stone length (cm)	طول هسته (سانتی‌متر)
Fruit length (cm)	طول میوه (سانتی‌متر)	Stone diameter (cm)	قطر هسته (سانتی‌متر)
Maximum fruit diameter (cm)	بیشینه قطر میوه (سانتی‌متر)	Stone size (cm^2)	اندازه بذر (سانتی‌مترمربع)
Fruit size (cm^2)	اندازه میوه (سانتی‌مترمربع)	Pulp: stone ratio	نسبت گوشت به هسته

نرم‌افزار Excel و SPSS صورت گرفت و ضریب شاخص تنوع فنوتیپی که نسبتی از انحراف معیار هر صفت بر میانگین همان صفت در کل جمعیت می‌باشد برآورد شد.

در قسمت دوم این تحقیق ۳۰ نمونه از ژنوتیپ‌های بررسی شده که دارای وزن میوه بیشتر بودند انتخاب شدند (جدول ۱) و با استفاده از ۱۵ آغازگر ISSR مورد بررسی قرارگرفتند. توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۳ ارائه شده است. به منظور استخراج DNA ژنومی، برگ این ژنوتیپ‌ها در اواسط بهار سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری گردید. استخراج DNA ژنومی با روش CTAB تغییر یافته (Doyle and Doyle, 1990) انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر DNA (۱۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۲ میکرولیتر آغازگر (۱۰ پیکومول در میکرولیتر)، ۷ میکرولیتر PCR Master Mix تهیه شده از شرکت سیناژن (0.2 1.6 mM dNTPs, 3 mM $MgCl_2$ Units/µl Taq,) و ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل با استفاده از دستگاه ترموسایکلر BioRad انجام گرفت.

جدول ۳- توالی آغازگرهای ISSR مورد استفاده در این مطالعه

Table 3. ISSR primers sequences used in this study

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر Primer sequence
UBC-807	AGA GAG AGA GAG AGA GT
UBC-810	GAG AGA GAG AGA GAG AT
UBC-814	CTC TCT CTC TCT CTC TA
UBC-828	TGT GTG TGT GTG TGT GA
UBC-818	CAC ACA CAC ACA CAC AG
UBC-827	ACA CAC ACA CAC ACA CG
UBC-811	GAG AGA GAG AGA GAG AC
HB12	CAC CAC CAC GC
UBC-811	GAG AGA GAG AGA GAG AC
UBC-826	ACA CAC ACA CAC ACA CC
HB14	CTC CTC CTC GC
HB10	GAG AGA GAG AGA CC
ISSR-17	GAG AGA GAG AGA GAG AGA C
LBMB-B	GAC AGA CAG ACA GAC ATT
LBMB-C	GAC AGA CAG ACA GAC AGT

مراحل تکثیر PCR به شرح ذیل صورت گرفت: یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه و به دنبال آن ۴۰ سیکل که هر سیکل شامل مرحله واسرشت سازی در دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد

به مدت دو دقیقه و در نهایت تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت هفت دقیقه ادامه یافت.

بعد از انجام واکنش، به محصول PCR، ۵ میکرولیتر بافر بارگذاری اضافه و در نهایت ۱۰ میکرولیتر محصول PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد به مدت ۱۲۰ دقیقه با ولتاژ ۹۰ ولت الکترفورز گردید. رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از اتیدیوم بروماید انجام و بعد از آبشویی با آب مقطر توسط دستگاه مستندسازی ژل تصویربرداری و باندهای حاصله به صورت صفر و یک نام‌گذاری شد و با استفاده از برنامه NTSYS-pc و PopGen آنالیز شد.

نتایج و بحث

ارزیابی کلی صفات ریختی

آماره‌های توصیفی شامل، مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و شاخص تنوع فنوتیپی صفات اندازه‌گیری شده برای جمعیت بررسی شده در جدول ۴ ارائه شده است. در بین صفات مورد بررسی بیشترین ضریب تنوع فنوتیپی مربوط به نسبت گوشت میوه به بذر، نسبت طول برگ به دمبرگ و سطح برگ و کمترین ضریب تنوع مربوط به بیشترین موقعیت عرض برگ، طول بذر و درصد رطوبت میوه بود. هم‌چنین طول دمبرگ از تنوع بالایی برخوردار بود.

در بین کل ژنوتیپ‌ها، بیشترین و کمترین وزن میوه به ترتیب در دو گونه *Z. mauritiana* و *Z. nummularia* ثبت شد. دامنه تغییرات وزن میوه در این پژوهش بین ۰/۹۶ تا ۲۱/۴۶ به‌دست آمد (جدول ۴). همچنین گونه *Z. mauritiana* از لحاظ خصوصیات برگ مانند طول، عرض و سطح برگ نسبت به سایر گونه‌های بررسی شده دارای بیشترین مقدار بود و از نظر این ویژگی گونه *Z. nummularia* در پایین‌ترین رتبه قرار گرفت.

بیشترین درصد مواد جامد محلول (۲۰/۳۷٪) در گونه *Z. oxyphylla* و کمترین مقدار آن (۱۶/۷۵٪) در گونه *Z. mauritiana* ثبت شد. همچنین بیشترین و کمترین مقدار اسید میوه به ترتیب در دو گونه *Z. mauritiana* و *Z. jujuba* با مقدار ۰/۹۳ و ۰/۴۵ درصد به دست آمد (جدول ۴). درصد رطوبت میوه در دو گونه *Z. mauritiana* و *Z. oxyphylla* در مقایسه با سایر گونه ها بالاتر بود در حالی که در گونه *Z. nummularia* درصد ماده خشک بیشتر بود و درصد رطوبت میوه در کمترین مقدار قرار داشت (جدول ۴).

عبید و همکاران (Obeed *et al.*, 2008) ارزش غذایی میوه و مشخصات فیزیکوشیمیایی نظیر ویتامین ث، مواد جامد محلول، درصد اسید، میزان قند و هم‌چنین صفات ریختی و تنوع ژنتیکی گونه کنار هندی (*Z. mauritiana*) را ارزیابی کردند و نشان دادند که پنج رقم مورد مطالعه تفاوت‌های آشکاری را از نظر صفات ریختی داشتند. هم‌چنین در تحقیق دیگری که تنوع ژنتیکی

جدول ۴- مقادیر کمینه، بیشینه، میانگین، انحراف معیار و شاخص تنوع فنوتیپی برای خصوصیت ژرم‌پلاسم Ziziphus

Table 4. Minimum (Min.), maximum (Max.), mean, standard deviation (std.) and phenotypic diversity index for characteristics of Ziziphus germplasm

Characteristic	خصوصیت	کمینه Min.	بیشینه Max.	میانگین Mean	انحراف معیار Std.	شاخص تنوع فنوتیپی Phenotypic diversity index (%)
Leaf blade length (cm)	طول پهنک برگ (سانتی‌متر)	1.64	6.81	2.81	0.56	19.91
Maximum leaf blade width (cm)	بیشینه عرض پهنک برگ (سانتی‌متر)	0.85	3.86	1.98	0.48	24.22
Leaf blade area (cm^2)	مساحت پهنک برگ (سانتی‌مترمربع)	1.51	21.06	5.75	2.36	41.11
Petiole length (cm)	طول دمبرگ (سانتی‌متر)	0.18	1.42	0.52	0.18	35.23
Ratio of leaf length to petiole length	نسبت طول برگ به طول دمبرگ	3.53	17.33	6.12	2.69	43.96
Leaf blade position of maximum width (code)	موقعیت بیشینه عرض پهنک برگ (کد)	1.80	2.77	2.27	0.21	9.24
Fruit weight (g)	وزن میوه (گرم)	0.96	21.46	1.79	0.55	30.89
Fruit length (cm)	طول میوه (سانتی‌متر)	1.04	3.98	1.39	0.17	12.01
Maximum fruit diameter (cm)	بیشینه قطر میوه (سانتی‌متر)	1.23	3.21	1.50	0.18	11.98
Fruit size (cm^2)	اندازه میوه (سانتی‌مترمربع)	1.28	14.17	2.12	0.50	23.40
Total soluble solids (%)	درصد مواد جامد محلول کل	11.20	27.4	18.26	2.95	16.18
Titratable acidity (mgl^{-1})	اسید قابل تیتراسیون (میلی‌گرم بر لیتر)	0.45	0.93	0.61	0.11	17.68
TSS/TA ratio	نسبت مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراسیون	11.83	71.43	31.26	9.65	30.87
Fruit Moisture (%)	درصد رطوبت میوه	50.48	81.6	70.48	7.13	10.12
Fruit dry matter (%)	درصد ماده خشک میوه	18.4	49.52	29.52	7.13	24.17
Stone weight (g)	وزن هسته (گرم)	0.21	1.39	0.59	0.90	30.20
Stone length (cm)	طول هسته (سانتی‌متر)	0.75	2.43	0.94	0.09	9.38
Stone diameter (cm)	قطر هسته (سانتی‌متر)	0.54	1.09	0.84	0.11	12.57
Stone size (cm^2)	اندازه بذر (سانتی‌مترمربع)	0.50	1.17	0.80	0.14	18.04
Pulp: stone ratio	نسبت گوشت به هسته	0.22	16.55	2.22	1.30	58.5

گیاه کنار (*Z. spina-christi*) را با استفاده از صفات ریختی ارزیابی نمودند، تنوع زیادی در صفاتی نظیر طول برگ، عرض برگ، طول دمبرگ، طول میوه، مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون گزارش کردند که اندازه طول برگ در حدود ۲ تا ۶/۷ سانتی‌متر، وزن میوه در حدود ۰/۵ تا ۱۵ گرم و مواد جامد محلول بین ۱۰ تا ۲۵ درصد ذکر شده است (Bina *et al*., 2012).

غزائیان و زراعتگر (Ghazaeian and Zeraatgar, 2014) با بررسی اکوتیپ‌های *Z. jujuba* استان گلستان نشان دادند تنوع قابل توجهی در نمونه‌های عناب وجود دارد که این تنوع ممکن است به خاطر اثر اقلیمی در ویژگی‌های رشدی و زایشی نمونه‌ها باشد. خاکدامن و همکاران (Khakdaman *et al*., 2007) گزارش کردند تنوع موجود در اکوتیپ‌های عناب متعلق به یک منطقه ممکن است به دلایل اختلافات ژنتیکی آنها و یا دگرگشنی بالای این جنس باشد.

میانگین صفات ارزیابی شده در این پژوهش در بین گونه‌های جنس *Ziziphus* در جدول ۵ ارائه شده است. میانگین وزن میوه در نمونه‌های ارزیابی شده متعلق به گونه *Z. mauritiana* در حدود ۲۰/۴۱ گرم ثبت شد که در مقایسه با سایر گونه‌ها از مقدار بیشتری برخوردار بود و بعد از آن گونه *Z. spina-christi* و *Z. jujuba* به ترتیب با میانگین ۲/۹۷ و ۲/۷۵ گرم قرار گرفتند (جدول ۵). وزن میوه یک صفت کمی است که تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد. با این حال نتایج برخی از گزارش نشان می‌دهد اثرات عوامل ژنتیکی برای افزایش وزن میوه بیشتر از عوامل محیطی است (Wei *et al*., 2002).

گائو و همکاران (Gao *et al*., 2009) تنوع زیادی در وزن میوه در میان ژنوتیپ‌های *Z. jujuba* گزارش کردند. گریگوریوا و همکاران (Grygorieva *et al*., 2014) نشان داد وزن میوه در برخی نمونه‌های متعلق به برخی از گونه‌های جنس کنار (Ziziphus) ممکن است به بیش از ۵۰ گرم هم برسد.

یکی دیگر از ویژگی‌های مهم در این جنس بالا بودن نسبت گوشت به بذر می‌باشد (Azam-Ali *et al*., 2001) که این پارامتر برای گونه *Z. mauritiana* دارای بیشترین مقدار (۱۵/۳۳) و بعد از آن به ترتیب گونه‌های *Z. jujube* (۴/۹۷) و *Z. spina-christi* (۳/۷۹) قرار گرفتند (جدول ۵).

در این تحقیق تفاوت مشخصی در بین گونه‌های بررسی شده در مقدار مواد جامد محلول، درصد اسید و نسبت قند به اسید وجود داشت به طوری که گونه *Z.mauritiana* دارای مقدار قند کم و اسید بیشتر در مقایسه با سایر گونه‌های مورد بررسی بود که این امر باعث کاهش شاخص طعم میوه یا نسبت قند به اسید در این گونه شده است. بر اساس گزارش‌های متعدد، مواد جامد محلول در گونه عناب *Z. jujuba* در محدوده ۱۵ تا ۴۵ درصد قرار

جدول ۵- میانگین خصوصیات ارزیابی شده در بین ژنوتیپ‌های Ziziphus

Table 5. Mean of evaluated characteristics among Ziziphus genotypes

Characteristic	خصوصیت	Species گونه				
		Z. jujuba	*Z. mauritiana*	*Z. nummularia*	*Z. oxyphylla*	*Z. spina-christi*
Leaf blade length (cm)	طول پهنک برگ (سانتی‌متر)	3.13	6.01	2.21	2.69	3.05
Maximum leaf blade width (cm)	بیشینه عرض پهنک برگ (سانتی‌متر)	1.77	3.16	1.60	1.66	2.19
Leaf blade area (cm^2)	مساحت پهنک برگ (سانتی‌مترمربع)	5.54	18.99	3.54	4.47	6.68
Petiole length (cm)	طول دمبرگ (سانتی‌متر)	0.19	1.26	0.44	0.34	0.62
Ratio of leaf length to petiole length	نسبت طول برگ به طول دمبرگ	0.59	7.57	0.97	0.91	1.89
Leaf blade position of maximum width (code)	موقعیت بیشینه عرض پهنک برگ (کد)	1.92	2.56	2.27	2.38	2.28
Fruit weight (g)	وزن میوه (گرم)	2.75	20.41	1.21	2.40	2.97
Fruit length (cm)	طول میوه (سانتی‌متر)	1.62	3.63	1.22	1.30	1.82
Maximum fruit diameter (cm)	بیشینه قطر میوه (سانتی‌متر)	1.68	3.11	1.15	1.39	1.64
Fruit size (cm^2)	اندازه میوه (سانتی‌مترمربع)	2.72	11.29	1.40	1.81	2.98
Total soluble solids (%)	درصد مواد جامد محلول کل	18.1	16.90	18.15	20.28	17.85
Titratable acidity (mgl^{-1})	اسید قابل تیتراسیون (میلی‌گرم بر لیتر)	0.48	0.87	0.66	0.57	0.60
TSS/TA ratio	نسبت مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراسیون	37.70	19.43	27.50	35.58	29.75
Fruit Moisture (%)	درصد رطوبت میوه	63.12	19.79	73.14	71.88	70.51
Fruit dry matter (%)	درصد ماده خشک میوه	36.88	80.21	26.86	28.12	29.49
Stone weight (g)	وزن هسته (گرم)	0.46	1.25	0.62	0.52	0.62
Stone length (cm)	طول هسته (سانتی‌متر)	0.93	2.21	0.94	0.92	0.95
Stone diameter (cm)	قطر هسته (سانتی‌متر)	0.54	0.93	0.86	0.83	0.86
Stone size (cm^2)	اندازه بذر (سانتی‌مترمربع)	0.50	2.06	0.80	0.77	0.82
Pulp: stone ratio	نسبت گوشت به هسته	4.97	15.33	0.95	3.62	3.79

دارد (Gao*et al.*, 2012; Ma *et al.*,2011; Chen *et al.*, 2006; Jiang *et al.*, 2006; Ghosh and Mathew, 2002).

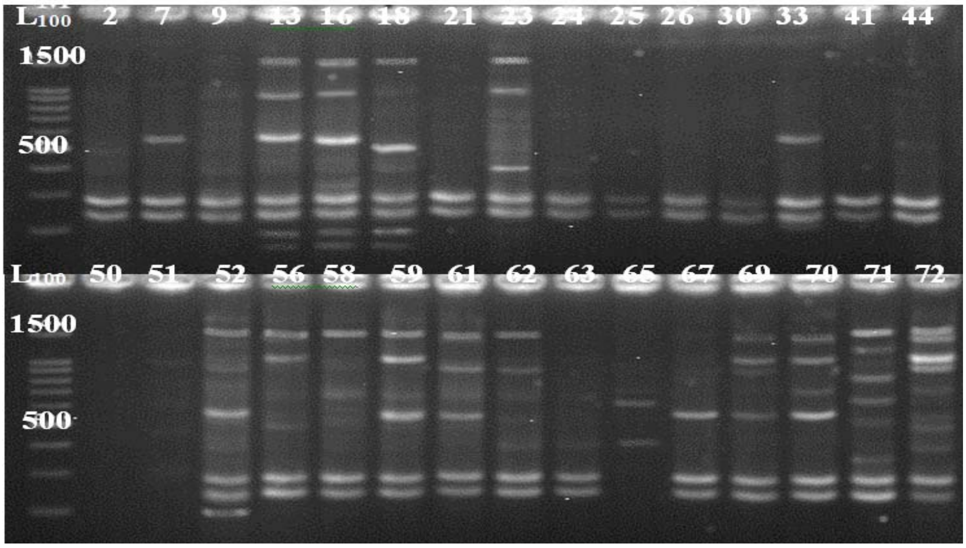
شاخص‌های کمی مرتبط با برگ در نمونه‌های مورد ارزیابی نشان داد گونه *Z. mauritiana* دارای بالاترین مقدار برای صفاتی مانند طول و عرض برگ می‌باشد. نتایج گزارش‌ها نشان می‌دهد ابعاد برگ همبستگی مستقیمی با صفاتی مانند وزن، طول و عرض میوه دارد. مهم‌ترین اندام برای جذب نور و فتوسنتز برگ‌ها هستند و با افزایش سطح برگ، محصولات فتوسنتزی افزایش می‌یابد که به مصرف میوه می‌رسد (Mashmoul *et al.*, 2013) و این ویژگی در مورد گونه *Z. mauritiana* صادق است. میانگین درصد ماده خشک و درصد رطوبت میوه در گونه *Z. nummularia* به ترتیب ۸۰/۲۱٪ و ۱۹/۷۹٪ ثبت شد که در مقایسه با سایر گونه‌های بررسی شده، میوه این گونه دارای ماده خشک بالا و رطوبت پایین‌تر می‌باشد (جدول ۵).

بررسی تنوع ژنتیکی اولین مرحله برای شناسایی منابع ژرم‌پلاسم گیاهی یک کشور، حفظ و استفاده از آنها در برنامه‌های به‌نژادی است. صفات مهم مربوط به ویژگی‌های میوه و برگ می تواند به عنوان نشانگرهای مهمی در برآورد ذخایر ژنتیکی ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گیرد. شناخت ویژگی‌های مورفولوژی منابع زیستی همچنین پیش نیازی برای استفاده موثر این منابع در مطالعات مولکولی است (Paganova, 2003). ارزیابی تنوع ژنتیکی در گونه‌های جنس کنار (Ziziphus) و همچنین معرفی منابع ژنتیکی که دارای صفات مطلوب به خصوص در ویژگی‌های میوه هستند امکان استفاده از آنها را در برنامه‌های به‌نژادی این محصول فراهم می‌کند.

تجزیه مولکولی

نتایج ارزیابی ۳۰ نمونه انتخاب شده با آغازگرهای ISSR سطح بالایی از چندشکلی را در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد. تمام ۱۵ آغازگر مورد استفاده، دارای چندشکلی و در مجموع ۱۶۶ باند بر روی ژل آگارز مشخص شد (شکل ۱). سطح قابل توجهی از تنوع میان نمونه‌های مختلف مشاهده شد و نتایج بدست آمده از این بخش اطلاعات کافی برای تشخیص و تفکیک ژنوتیپ‌ها را از یکدیگر فراهم نمود. مقدار بالای تنوع کنار ممکن است به درجه بالای هتروزیگوتی آن نسبت داده شود. تعداد کل باند برای هر آغازگر از ۶ تا ۱۵ باند و محدوده اندازه قطعات تولید شده نیز از ۱۷۰ تا ۱۵۰۰ جفت باز متغیر بود (شکل ۱).

آغازگر HB12 در بین ژنوتیپ‌های مختلف ۱۵ باند تکثیر کرد که اندازه باندهای به دست آمده در محدوده ۱۸۰ تا ۱۵۰۰ جفت‌باز متغیر بود. میزان اطلاعات چندشکلی، یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه آغازگرهای



شکل ۱- الگوهای تکثیر آغازگر HB12 در ۳۰ نمونه جنس Ziziphus
Fig. 1. Banding patterns generated by HB12 primer in 30 accessions of Ziziphus genus

مختلف از لحاظ قدرت آن‌ها برای تفکیک ژنوتیپ‌ها می‌باشد. در این تحقیق همه آغازگرهای استفاده شده چندشکلی بالایی را بین نمونه‌های مورد بررسی نشان دادند. تعداد باند تولید شده برای هر آغازگر و ارزش محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) مشاهده شده در جدول ۶ ارائه شده است.

نتایج نشان داد بیشتر آغازگرهای استفاده شده، دارای شاخص PIC بالایی بودند و بیانگر کارایی آن‌ها در تفکیک ژنوتیپ‌ها از همدیگر می‌باشد. آغازگرهای UBC826 و HB14 دارای بالاترین مقدار محتوی اطلاعات چندشکلی (۰/۸۱) بودند و آغازگر LBMB-B کمترین مقدار محتوی اطلاعات چندشکلی (۰/۶۵) را به خود اختصاص داد (جدول ۶). بالا بودن درصد چندشکلی در میان ۳۰ ژنوتیپ کنار می‌تواند نشان دهنده بالا بودن سطح تنوع ژنتیکی آنها می‌باشد.

سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2007) با بررسی تنوع ژنتیکی گونه *Z. mauritiana* با استفاده از ۱۸ آغازگر ISSR در مجموع ۱۶۷ باند مشاهده کردند که ۱۵۲ عدد (۸۹/۹۶ درصد)چندشکلی نشان دادند. این پژوهشگران هم‌چنین به این نتیجه رسیدند که ژرم‌پلاسم Ziziphus از نظر ژنتیکی متنوع است و ژنوتیپ‌های کنار هندی که قبلاً بر اساس ویژگی‌های ریختی مشابه گزارش شده‌اند از نظر ژنتیکی متفاوتند. لی و همکاران (Li *et al.*, 2008) در مطالعه خود با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR در مجموع ۹۶ الگوی باندی را گزارش نمودند که ۷۶ تای آنها دارای ۷۹/۱۷ درصد چندشکلی بودند.

جدول ۶- شاخص های ژنتیکی برای آغازگرهای ISSR در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های Ziziphus

Table 6. Genetic indices for ISSR primers for evaluation of genetic diversity in Ziziphus genotypes

Primer name	Na	Ae	H	PIC
UBC-807	10	7.78	2.39	0.75
UBC-810	12	8.96	2.61	0.77
UBC-814	10	8.11	2.69	0.79
UBC-828	12	8.39	2.50	0.77
UBC-818	10	8.01	2.32	0.79
UBC-827	8	6.40	2.03	0.72
UBC-811	12	8.75	2.65	0.78
HB12	15	9.82	2.69	0.79
UBC-811	11	8.16	2.60	0.78
UBC 826	14	10.86	3.37	0.81
HB14	15	10.55	3.13	0.81
HB10	10	8.41	2.75	0.78
ISSR-17	10	7.54	2.42	0.76
LBMB-B	6	4.53	1.29	0.65
LBMB-C	10	7.56	2.44	0.77
Average	11.06	8.25	2.52	0.76

Na: تعداد آلل‌های مشاهده شده، Ae: تعداد آلل‌های مؤثر، H: شاخص تنوع شانون، PIC: محتوی اطلاعات چند شکلی.

Na: Observed number of alleles, Ae: Effective number of alleles, H: Shannon's information index, PIC: Polymorphism information content

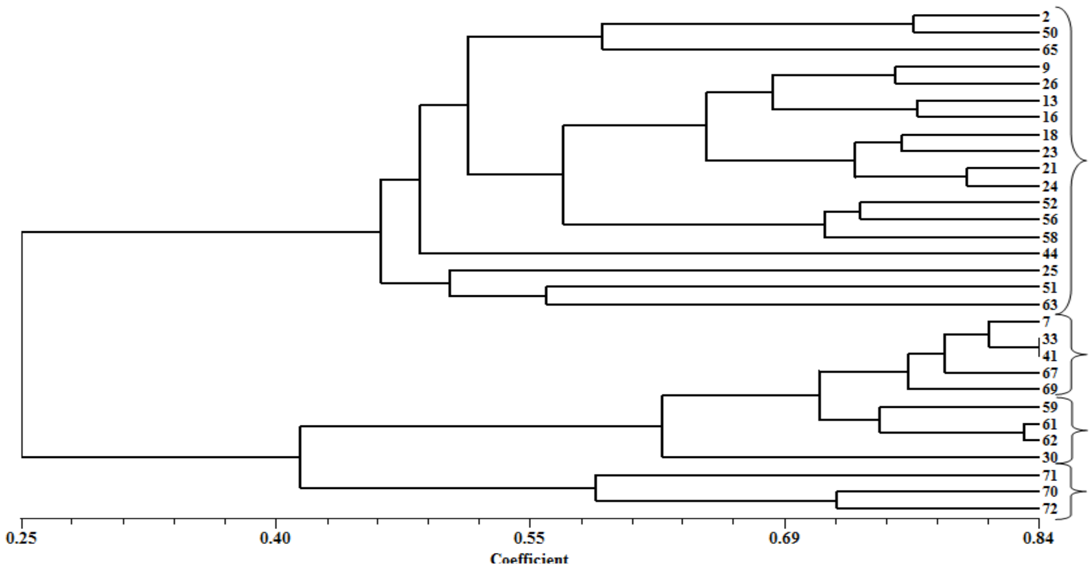
ساها و همکاران (Saha *et al.*, 2013) در بررسی ۳۲ رقم *Z. mauritiana* با ۱۱ آغازگر ISSR، ۸۸ باند و با ۱۵ آغازگر RAPD، ۱۶۹ باند گزارش کردند. پنگ و همکاران (Pang *et al.*, 2002) در بررسی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم عناب با نشانگر ملکولی RAPD، در مجموع ۴۲۹ باند گزارش کردند که ۲۱۴ عدد ۴۹/۸۸ درصد چندشکلی را دارا بود. شاه‌حسینی و همکاران (Shahhoseini *et al.*, 2012) در مطالعه خود با نشانگر AFLP، ۶۸۹ باند با ۱۵ جفت آغازگر مشاهده نمودند که ۴۴ باند دارای چندشکلی بودند و میانگین تعداد باندهای تکثیر شده به ترتیب ۵۷/۴۲ و ۳/۶۷ به دست آمد.

میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در این تحقیق برای آغازگرهای ISSR، ۱۱/۰۶ آلل بود که بیشترین تعداد آلل برای آغازگر HB14 و HB12 (۱۵ آلل) و کمترین تعداد برای آغازگر LBMB-B (۶ آلل) به دست آمد. ضریب شانون (I) یکی دیگر از معیارهای تنوع ژنتیکی است که این ضریب برای کل آغازگرها به طور میانگین ۲/۵۲ ثبت شد (جدول ۶). بیشترین مقدار آن برای آغازگر UBC826 و کمترین مقدار آن مربوط به آغازگر LBMB-B بود که به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار چندشکلی را نشان دادند.

تجزیه خوشه‌ای و مولفه‌های اصلی برای روابط ژنتیکی بر اساس نشانگر ISSR

ماتریس تشابه جاکارد بین ژنوتیپ‌های Ziziphus با استفاده از داده‌های ISSR محاسبه

شد. ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی در دامنه ۰/۲۱ بین نمونه شماره ۷۰ از گونه *Z. jujuba* و نمونه شماره ۲۵ از گونه *Z. spina-christi*، تا ۰/۸۱ بین نمونه ۳۳ و ۴۱ که متعلق به گونه *Z. oxyphylla* به دست آمد (شکل ۲). ارتباط میان ۳۰ نمونه Ziziphus بر اساس مقدار تشابه ژنتیکی جاکارد بوسیله تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA تعیین شد (شکل ۲).



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضرایب تشابه جاکارد و روش UPGMA با استفاده از ۱۵ آغازگر ISSR در ۳۰ نمونه Ziziphus

Figure 2. Cluster analysis based on Jaccard's similarity coefficient and UPGMA method using 15 ISSR primers on 30 accessions of Ziziphus

بر اساس دندروگرام به دست آمده از ماتریس تشابه جاکارد ژنوتیپ‌های مورد بررسی در فاصله ۰/۲۵ به دو گروه تقسیم شدند. در یک گروه بزرگ همه ژنوتیپ‌های متعلق به گونه *Z. spina-christi* از سه گونه دیگر مورد بررسی تفکیک شدند. اما در گروه دیگر نمونه‌های عناب از دو گونه Ziziphus که شامل گونه‌های *Z. mauritiana* و *Z. oxyphylla* بودند تفکیک شدند. ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2015) در مطالعه خود در بررسی ۴۵ نمونه *Z. jujuba* با استفاده از ۲۴ نشانگر SSR بر اساس مقدار تشابه ژنتیکی جاکارد آنها را با روش UPGMA به هشت گروه تقسیم‌بندی کردند. سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2009) نیز شباهت ژنتیکی در میان ۴۸ ژنوتیپ‌های گونه *Z. mauritiana* را در محدوده ۴۷/۶۲ تا ۸۸/۹۷ درصد گزارش نمودند و پیشنهاد کردند که این می‌تواند یک

پایه ژنتیکی گسترده برای مجموعه ژرم‌پلاسم جنس کنار باشد.

قرار گرفتن نمونه‌های یک منطقه جغرافیایی در دو گروه مستقل و نمونه‌های مناطق مختلف در یک گروه بیانگر این مطلب است که عامل منطقه جغرافیایی با وجود مفید بودن در گروه‌بندی نمونه‌ها نمی‌تواند به عنوان فاکتور کامل و مستقل در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد. خاکدامن و همکاران (Khakdaman *et al.*, 2007) با بررسی ۲۹ اکوتیپ عناب بر اساس ویژگی‌های ریختی گیاه گزارش کردند قرارگیری اکوتیپ‌های متعلق به مناطق مختلف در گروه‌های مشترک ممکن است به خاطر منشاء واحد آنها و یا تغییر ویژگی ریختی نهال‌ها بعد از کاشت در شرایط جدید باشد و یا تنوع موجود در اکوتیپ‌های متعلق به یک منطقه ممکن است به دلایل اختلافات ژنتیکی آنها و یا دگرگشنی بالای این جنس باشد.

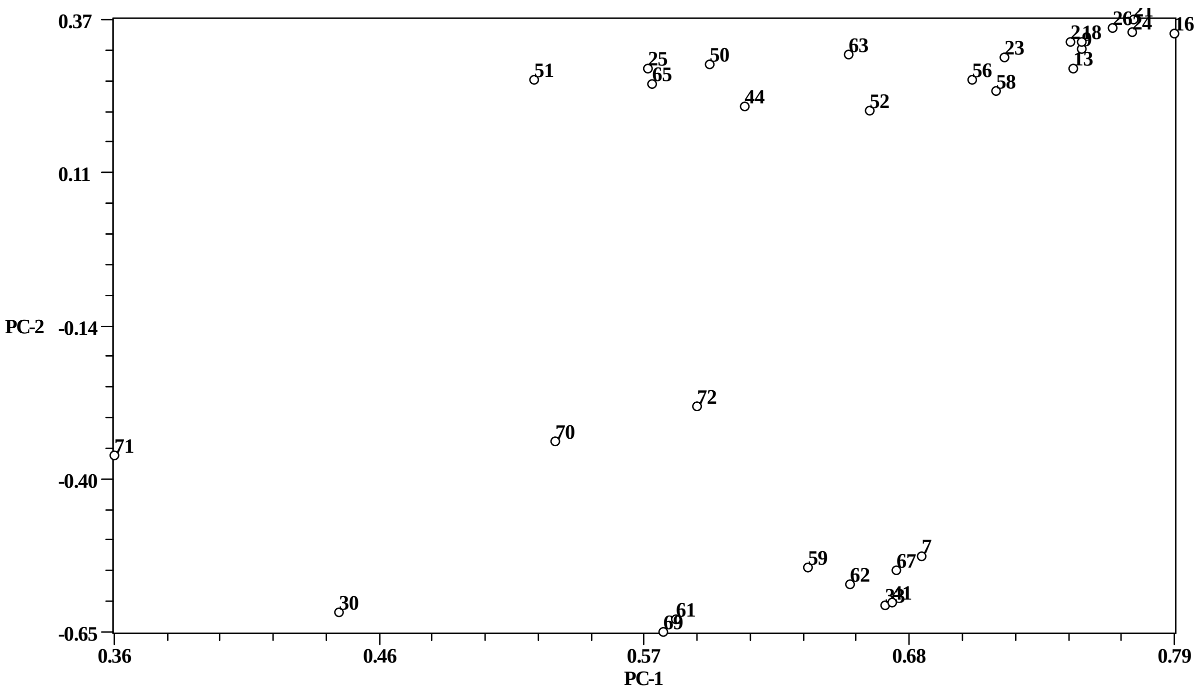
مقادیر ویژه محاسبه شده برای پنج فاکتور اصلی و میزان تغییراتی که توسط آن‌ها توضیح داده می‌شود در جدول ۷ ارائه شده است. پنج عامل اصلی در مجموع ۵۲/۸۵ از کل واریانس را به خود اختصاص دادند. اولین عامل بیشترین تغییرات را (۳۴/۹ درصد) نسبت به سایر عامل‌ها توجیه کرد و عامل دوم حدود ۵/۶۴ درصد تغییرات را توضیح داد.

جدول ۷- مقادیر ویژه، واریانس و درصد تجمعی واریانس به دست آمده از پنج عامل اصلی حاصل از تجزیه عامل‌ها با استفاده از نشانگر ISSR

Table 7. Eigenvalue, variance and cumulative variance for five major factors obtained from PCA using ISSR marker

مؤلفه Component	مقدار ویژه Eigen value	درصد واریانس Variance (%)	درصد تجمعی واریانس Cumulative variance (%)
1	10.48	34.98	34.98
2	1.69	5.64	40.58
3	1.43	4.78	45.36
4	1.17	3.92	49.29
5	1.06	3.55	52.85

در این پژوهش تجزیه بای‌پلات با استفاده از دو فاکتور اصلی اول و دوم که بترتیب، ۳۴/۹۴ و ۵/۶۴ درصد از کل واریانس را نشان دادند انجام شد. پراکنش ژنوتیپ‌ها در فضای بای‌پلات نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا بین آن‌ها می‌باشد و هم‌چنین تجمع افراد در یک ناحیه از پلات، نشان دهنده تشابه ژنتیکی آن افراد می‌باشد (شکل ۳). با توجه به تجزیه بای‌پلات در گروه اول در قسمت بالا سمت راست نمودار نمونه‌های مربوط به گونه *Z. spina-christi* جای گرفتند که از لحاظ صفات ریختی به هم شباهت بیشتری نشان دادند (شکل ۳). نمونه‌های



شکل ۳- تجزیه دو بعدی نمونه‌های Ziziphus بر اساس ماتریس تشابه جاکارد با استفاده از داده‌های نشانگر ISSR

Fig. 3. Analysis of 2D plot for Ziziphus accessions based on Jaccard's similarity coefficient using ISSR marker data

سه گونه دیگر مورد بررسی بر همین اساس در گروه دیگر و در قسمت پایین فضای نمودار قرار گرفتند. همان‌طور که مشاهده می‌گردد نمونه‌های متعلق به گونه *Z. jujuba* بیشترین شباهت ژنتیکی را با گونه‌های *Z. mauritiana* و *Z. oxyphylla* نشان دادند (شکل ۳).

در مجموع نتایج ارزیابی ژنوتیپ‌های کنار و عناب بر اساس نشانگرهای ریختی و ISSR، نشان داد تنوع ژنتیکی بالایی برای گونه‌های بررسی شده وجود دارد که می‌توان از این تنوع به عنوان مواد ژنتیکی مناسب در برنامه‌های به‌نژادی برای گونه‌های مورد بررسی استفاده نمود. این تنوع بالا می‌تواند به دلیل ماهیت دگرگشن بودن این گونه گیاهی باشد. در بین نمونه‌های کنار وحشی بررسی شده، برخی از ژنوتیپ‌های متعلق به گونه *Z. spina-christi* (ژنوتیپ‌های شماره ۱۳، ۲، ۱۸ و ۲۱) و *Z. oxyphylla* (ژنوتیپ شماره ۷) دارای میوه‌های بزرگتر و با کیفیت بالاتر بودند که می‌توان آن‌ها را به صورت رویشی تکثیر و گسترش داد و یا در برنامه‌های به‌نژادی این محصول استفاده شوند.

سپاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه ایلام تامین شده است که نگارندگان بدین‌وسیله مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را ابراز می‌دارند.

References

Abdollahi, F., Jafari, L., and Gordi Takhti, S. 2013. Effect of GA3 on growth and chemical composition of jujube leaf (*Ziziphus spina-christi*) under salinity condition. Journal of Plant Process and Function 2: 53-67 (in Persian).

Asare, M. H. 2008. Biological characteristic of ber trees in Iran. Research Institute of Forest and Rangelands Publication. 594 pp (in Persian).

Azam-Ali, S., Bonkoungou, E., Bowe, C., DeKock, C., Godara, A., and Williams, J. T. 2001. Fruits for the future 2, ber and other jujubes (Revised Edition). International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, SO171 BJ, UK. 289 pp.

Bina, F., Zamani, Z., and Nazeri, V. 2012. Morpho-based genetic variation in Christ's thorn (*Ziziphus spina-christi* (L.) Wild.). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 19: 274-288 (in Persian).

Chen, Y. Q., Zhong, X. H., and Gan, L. F. 2006. The performance of Liuxiangzao jujube cultivar and its cultural techniques. South China Fruits 1: 49-50.

Doyle, J. J., and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA form fresh tissue. Focus 12: 13-15.

Fenton, G. A., and Kennedy, M. J. 1998. Rapid dry weight determination of kiwifruit pomace and apple pomace using an infrared drying technique. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 26: 35-38.

Gao, Q. H., Wu, C. S., Wang, M., Xu, B. N., and Du, L. J. 2012. Effect of drying of jujubes (*Ziziphus jujuba* Mill.) on the contents of sugars, organic acids, α-tocopherol, β-carotene, and phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60: 9642-9648.

Gao, W. H., Li, X. G., and Wang, C. Z. 2009. Variation in morphology of jujube ‘Muzao’ (*Ziziphus jujuba* Mill.) in the Losses Plateau of China. Acta Horticulturae 840: 197-202.

Ghazaeian, M., and Zeraatgar, H. 2014. Reproductive and vegetative characteristics

of *Ziziphus jujube* ecotypes of Golestan province. Seed and Plant Improvment Journal 30: 849-855 (in Persian).

Ghosh, S. N., and Mathew, B. 2002. Performance of nine ber (*Ziziphus mauritiana* Lamk) cultivars on topworking in the semi-arid region of West Bengal. Journal of Applied Horticulture 4: 49-51.

Ghouth, K., Malekzadeh Shafaroodi, S., Rashed Mohassel, M. H., Akbari, M. R., and Razavi, S. H. 2014. Grouping jujubes of Iran based on quantitative characteristics and ISSR and RAPD markers. Seed and Plant Improvment Journal 30: 173-190 (in Persian).

Godt, M. J. W., Race, T., and Hamrick, J. L. 1997. A population genetic analysis of *Ziziphus celata*, an endangered Florida shrub. Journal of Heredity 88: 531-533.

Grygorieva, O., Abrahamova, V., Karnatovska, M., Bleha, R., and Brindza, J. 2014. Morphological characteristic of fruit, drupes and seeds genotypes of *Ziziphus jujuba* Mill. Potravinarstvo 8: 306-314.

Jiang, X. W., Cao, J. Q., Zeng, J. X., and Huang, F. P. 2006. Jujube cultivars trials and study on their adaptability. South China Fruits 1: 51-52.

Khakdaman, H., Pourmeidani, A., and Adnani, S. M. 2007. Study of genetic variation in Iranian jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) ecotypes. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 14: 202-214.

Li, H. T., Li, Z. S., Feng, J. C., Li, J. D., and Bi, H. T. 2008. Genetic analysis of *Ziziphus jujuba* 'Huizao' using ISSR markers. Acta Horticulturae 840: 135-142.

Ma, Q. H., Wang, G. X., and Liang, L. S. 2011. Development and characterization of SSR markers in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) and its related species. Scientia Horticulturae 129: 597-602.

Mashmoul, A., Hassani, A., Pirzad, A., and Azimi, J. 2013. Effect of chemical and biological phosphorus on the some morphological characters of summer savory (*Satureja hortensis*). International Journal of Plant Production 4: 184-188.

Mozaffarian, V. 2004. Trees and Shrubs of Iran. Farhang Moaser Publications. 1120 pp. (in Persian).

Obeed, R. S., Harhash, M. M., and Abdel-Mawgood, A. L. 2008. Fruit properties and genetic diversity of five ber (*Ziziphus mauritiana* Lamk) cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences 11: 888-**893.**

Paganova, V. 2003. Taxonomical reliability of leaf and fruit morphological characteristic of the Pyrus L. taxa in Slovakia. HortScience 3: 98-107.

Peng, J. Y., Shu, H. R., and Peng, S. Q. 2002. To address the problem of infraspecific classification of *Ziziphus jujba* Mill. using RAPD data. Acta Phytotaxonomica Sinica 40: 89-94.

Razi, M. F. U. D., Anwar, R., Basra, S. M. A., Khan, M. M., and Khan, I. A. 2013. Morphological characterization of leaves and fruit of jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) germplasm in Faisalabad, Pakistan. Pakistan Journal of Biological Sciences 50: 211-216.

Saeidi, K., Shahhoseini, R., Tavakoli Neko, H., and Saadatjou, B. 2016. Evaluation of some phytochemical, morphological characteristics and minerals content in different populations of jujube (*Ziziphus jujaba* Mill.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 32: 245-255.

Saha, D., Srivastava, S. C., and Ramani, R. 2013. Genetic relationships among fruit cultivars and host plants of Indian lac insect in ber (*Ziziphus mauritiana* Lam.) revealed by RAPD and ISSR markers. Indian Journal of Biotechnology 12: 170-177.

Shahhoseini, R., Babaei, A., Kazemi, M., and Omidbaigi, R. 2012. A study on genetic variation in Iranian jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) genotypes using molecular AFLP marker. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 20: 55-68. (in Persian).

Singh, A. K., Sharma, P., Singh, R., Singh, B., Koundal, K. R., and Singh, N. K. 2007. Assessment of genetic diversity in *Ziziphus mauritiana* using inter-simple sequence repeat markers. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 16: 35-40.

Wei, X., Sykes, S. R., and Clingeleffer, P. R. 2002. An investigation to estimate genetic parameters in CSIRO’s table grape breeding program. 2. Quality characteristics. Euphytica 128: 343–351.

Zhang, Z., Gao, J., Kong, D., Wang, A., Tang, S., Li, Y., and Pang, X. 2015. Assessing genetic diversity in *Ziziphus jujuba* ‘Jinsixiaozao’using morphological and microsatellite (SSR) markers. Biochemical Systematics and Ecology 61: 196-202.